

УДК 576.893.192.1 : 577.1

БИОСИНТЕЗ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ
У *EIMERIA TENELLA* (COCCIDIA)

В. И. Зайонц, М. В. Крылов, В. И. Лоскот, А. И. Кириллов

Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства;
Зоологический институт АН СССР, Ленинград

Ингибиторный анализ показал, что *E. tenella* не включает готовую фолиевую кислоту в метаболический процесс, а синтезирует ее метаболит 7,8-дигидрофолиевую кислоту (ДГФК) из его предшественника — парапаминонензойной кислоты (ПАБК), поступающей в организм хозяина с кормом. Эту ПАБК можно полностью конкурентно вытеснить из метаболизма сульфадимезином (СД) при молярном соотношении ПАБК : СД = 1 : 16.7. СД является в 6 раз более сильным конкурентным антагонистом ПАБК у кокцидий в системе паразит—хозяин, чем у бактерий в культуральной среде. Увеличение содержания ПАБК по отношению к СД выше 1 : 16.7 усиливает жизнедеятельность кокцидий, что выражается в повышении летальности цыплят, которая достигает максимума при ПАБК : СД = 1 : 1.25.

Ингибиторный анализ биосинтеза макромолекул у живых систем приобретает все большее значение как средство для решения труднейших задач биологии, в том числе вопросов адаптации и микроэволюции паразитических простейших.

При изучении механизма ингибирования бактерий *Clostridium acetobutylicum* и пивных дрожжей (Rubbo, Gillespie, 1940; Woods, 1940) сульфаниламида в этих микроорганизмах был открыт жизненно важный биосубстрат ПАБК, конкурентное и обратимое вытеснение которой ингибитором приводит к подавлению их жизнедеятельности. Белл и Роблин (Bell, Roblin, 1942) обнаружили большое стерическое сходство между молекулой сульфаниламида и ПАБК. Позже с помощью того же ингибиторного анализа сульфаниламидом на *E. coli* (Jaenicke, Chan, 1960; Brown, 1962) было доказано, что ПАБК с помощью фермента дигидрофолатсинтетазы, ионов магния и АТФ конденсируется с 2-амино-4-оксиметил-7,8-дигидроптеридинпирофосфатом и глутаминовой кислотой, превращаясь в 7,8-дигидрофолиевую кислоту. Три участка ДНК, отвечающие за образование активного центра дигидрофолатсинтетазы, были выявлены на пневмококке с помощью ингибиторно-генетического анализа (Kuhnau, 1968).

Чувствительность кокцидий к сульфаниламидам (Levine, 1941) свидетельствует о наличии у них ПАБК. Обратимые конкурентные отношения между ПАБК и сульфахиноксалином у *E. brunetti* установили Мак-Манус и др. (McManus a. oth., 1967), между ПАБК и натриевой солью сульфахлорпирацина у *E. tenella* — Матзуэва и Китано (Matsuzawa, Kitano, 1974). Последние также изучали возможность конкурентного антагонизма между фолиевой кислотой (ФК) и сульфаниламидом у кокцидий.¹

Включение ПАБК в метаболизм кокцидий свидетельствует об их способности синтезировать ДГФК. Это не исключает возможности к одно-

¹ Ввиду того что ДГФК малодоступна и нестабильна, для исследований обычно применяют ФК, которая в организме быстро восстанавливается ферментом дигидрофолатредуктазой в ДГФК.

временному включению паразитом ФК и ДГФК извне. Мы стремились решить следующие задачи: (1) может ли ФК или ДГФК включаться в метаболизм кокцидий; (2) проверить вытекающий из работы Матцуазава и Китано вывод о том, что ФК — более сильный антагонист сульфаниламида, чем ПАБК; (3) установить, могут ли субстраты, являющиеся продуктами биосинтезов с участием ДГФК, снимать ингибирующий эффект СД на кокцидии; (4) установить молярное соотношение ПАБК : сульфаниламид, при котором происходит полное и 50%-е снятие ингибирующего эффекта сульфаниламида.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Ингибиторный анализ проводился на штамме *E. tenella*, высокочувствительном к СД, полученном путем заражения одной ооцистой цыпленка, стерильного относительно кокцидий.²

Заражение цыплят породы леггорн Старкросс 288 линии АВС 20 тыс. ооцист *E. tenella* и введение в организм цыпленка препаратов и их смесей проводили с кормом, используя методику Крылова (1969).

В первой серии опытов, где изучалось влияние ФК, смеси азотистых оснований и аминокислот на летальность цыплят, зараженных кокцидиями, были группы, в корме которых содержалось: 500 мг/кг СД; ФК : СД=0.16³ (127 мг/кг ФК+500 мг/кг СД); ФК : СД=0.64 (508 мг/кг ФК+500 мг/кг СД); ФК : СД=2.56 (2030 мг/кг ФК+500 мг/кг СД); ФК : СД=2.56 (2030 мг/кг ФК+500 мг/кг СД); 2030 мг/кг ФК; А : Г : dl-метионин : глицин : СД=1 : 1 : 2 : 1 : 1 (243 мг/кг А+272 мг/кг Г+ +536 мг/кг dl-метионина+132 мг/кг глицина+500 мг/кг СД); А : Г : dl-метионин : глицин=1 : 1 : 2 : 1 (243 мг/кг А+272 мг/кг Г+536 мг/кг dl-метионина+132 мг/кг глицина). К опытам этой серии были поставлены контрольные группы, не получавшие препаратов — одна зараженная и одна не зараженная *E. tenella*.

Во второй серии опытов, где изучалось влияние ПАБК на летальность цыплят, зараженных кокцидиями, были группы, в корм которых вводили: 500 мг/кг СД; 200 мг/кг ПАБК; ПАБК : СД=0.025 (6.3 мг/кг ПАБК+ +500 мг/кг СД); ПАБК : СД=0.05 (12.5 мг/кг ПАБК+500 мг/кг СД); ПАБК : СД=0.1 (25 мг/кг ПАБК+500 мг/кг СД); ПАБК : СД=0.2 (50 мг/кг ПАБК+500 мг/кг СД); ПАБК : СД=0.4 (100 мг/кг ПАБК+ +500 мг/кг СД); ПАБК : СД=0.8 (200 мг/кг ПАБК+500 мг/кг СД). К опытам этой серии были поставлены контрольные группы цыплят, не получавшие препаратов — одна зараженная и одна не зараженная *E. tenella*.

Количество цыплят в каждой группе составляло 15; всего в опытах участвовало 315 цыплят. Критерием действия препаратов и их смесей на *E. tenella* служили наблюдения за летальностью цыплят в подопытных и контрольных группах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первая серия опытов. В группе цыплят, получавших СД, гибели не наблюдалось. Количество погибших цыплят в группах, получавших ФК : СД, по сравнению с отсутствием гибели цыплят, в корме которых содержался один СД, статистически не достоверно (для ФК : СД=0.16 погиб 1 цыпленок, $0.50 < p < 0.70$; для ФК : СД=0.64 — $2.0.30 < p < 0.50$; для ФК : СД=2.56 — $3.0.10 < p < 0.20$). Сравнение числа погибших цыплят в группе, не получавшей препаратов (6), и в группе цыплят, в корм которым вводилось максимальное количество ФК (7), свидетельствует о недостоверности их различия ($0.70 < p < 0.80$).

В этой же серии опытов были получены данные о влиянии добавления к СД смеси аденина, гуанина, метионина и глицина (1 : 1 : 2 : 1 : 1)

² Штамм был получен и любезно предоставлен нам Н. П. Крыловой.

³ Здесь и далее приводятся молярные отношения всех препаратов.

на гибель цыплят, зараженных кокцидиями. Как для одного СД, так и при добавлении к нему смеси азотистых оснований и аминокислот гибели цыплят не наблюдалось. Сравнение числа погибших цыплят в группе, не получавшей препаратов (6), с числом погибших цыплят, в корм которых вводилась смесь азотистых оснований и аминокислот (7), свидетельствует о недостоверности их различия ($0.70 < p < 0.80$).

В группе цыплят, не зараженных *E. tenella* и не получавших препаратов, гибели птиц не наблюдалось.

Вторая серия опытов. В группе цыплят, получавших СД, гибели цыплят не наблюдалось. Наблюдалась гибель цыплят в группах, где к СД добавлялась ПАБК, причем с увеличением ПАБК : СД количество погибших цыплят резко увеличивалось (для ПАБК : СД = 0.025 погибло 3 цыпленка, для ПАБК : СД = 0.05 — 6, для ПАБК : СД = 0.1 — 6, для ПАБК : СД = 0.2 — 9, для ПАБК : СД = 0.4 — 12, для ПАБК : СД = 0.8 — 12). Сравнение числа погибших цыплят в группе, не получавшей препаратов (8), с числом погибших цыплят в группе, которой с кормом давали максимальное количество ПАБК (15), свидетельствует об их существенном различии.

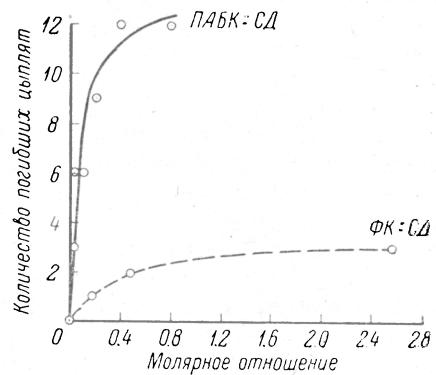
В группе цыплят, не зараженных *E. tenella* и не получавших препаратов, гибели цыплят не наблюдалось.

Интерполированием были вычислены такие отношения ПАБК : СД, при которых погибло: (A) 8 цыплят, т. е. столько же, сколько в группе, не получавшей препаратов, что соответствовало равенству эффектов ПАБК и СД; (B) 4 цыплят, что соответствовало половине снятия эффекта СД с помощью ПАБК. Кроме того, было отмечено значение (B), при котором число погибших цыплят переставало увеличиваться с увеличением ПАБК : СД и становилось постоянным (12). Для (A), (B) и (B) отношение ПАБК : СД составило 0.06, 0.03 и 0.80 соответственно. В пересчете на количество молекул СД, приходящихся на 1 молекулу ПАБК, (A) отвечает 16.7, (B) — 33.3 и (B) — 1.25 молекулы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Летальность цыплят в условиях наших опытов связана с жизнедеятельностью кокцидий. Отсутствие достоверных различий в гибели цыплят при добавлении значительных количеств ФК к СД можно объяснить тем, что вводимая ФК не включается в метаболизм паразита и не влияет на его жизнедеятельность. Более того, даже при отсутствии ингибитора СД, добавление максимального количества ФК не влияло на жизнедеятельность кокцидий. Известно, что в организме под действием дигидрофолатредуктазы происходят два последовательных процесса: $\text{ФК} \rightarrow \text{ДГФК} \rightarrow 5,6,7,8\text{-тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)}$. Последняя принимает участие в ряде жизненно важных процессов биосинтеза нуклеозидов, а также в биосинтезе аминокислот. Для *Toxoplasma gondii*, паразитов, близких в систематическом отношении к кокцидиям (Hutchison a. oth., 1970; Overdulve, 1970; Siim a. oth., 1970), установлено, что ТГФК не усваивается паразитом и, по-видимому, синтезируется им из усваиваемой ПАБК (Hitchings, 1966).

Существенная зависимость летальности цыплят от добавления ПАБК к СД, вероятно, связана с интенсивным включением ПАБК в метаболизм паразита. Резкое увеличение количества погибших цыплят при переходе



Зависимость числа погибших цыплят, инвазированных *E. tenella*, от молярных отношений ФК : СД и ПАБК : СД в корме.

от группы, не получавшей препаратов, к группе, в корм которой вводили максимальное количество ПАБК, также свидетельствует об активном включении ПАБК в метаболизм *E. tenella*. Сходные данные с использованием других критериев (репродуктивной способности, относительных привесов цыплят) были получены ранее на *E. acervulina* (Warren, 1968), на *E. tenella* (Horton-Smith, Boyland, 1946; Warren, 1968), на *E. brunetti* (McManus a. oth., 1967) и на *Plasmodium bergeri* (Eling, 1969). В работе Матцузава и Китано, упомянутой выше, установлено, что ПАБК начинает снимать антиоксидантный эффект сульфахлорпиразина на *E. tenella* в том случае, если на 4.7 молекулы сульфаниламида добавлена всего 1 молекула ПАБК. В то же время, по данным авторов, ФК более активно стимулирует жизнедеятельность кокцидий, чем ПАБК, так как начинает снимать эффект сульфахлорпиразина при соотношении 6.1 молекулы сульфаниламида на 1 молекулу ФК. Эти данные представляются, однако, малоубедительными, так как Матцузава и Китано судили о степени влияния ФК на эффект сульфаниламида по единственному изменению критерия относительной репродуктивной способности ооцист *E. tenella* от 0 до 1.2%. Такое небольшое изменение в сильно флюктуирующем критерии вряд ли является достоверным. Достоверность дополнительно снижается за счет явно недостаточного количества цыплят в группе (5).

Данные о влиянии добавок ПАБК на жизнедеятельность кокцидий позволили нам установить, что при молярном отношении ПАБК : СД = 1 : 16.7 эффекты их действия на систему «паразит—хозяин» становятся одинаковыми.⁴ Половина эффекта действия СД снимается при соотношении ПАБК : СД = 1 : 33.3. Представляет интерес сравнить эту величину с отношением ПАБК : сульфадиазин для бактерии *Streptococcus faecalis* в культуральной среде. Для снятия половины ингибирующего эффекта сульфаниламида необходимо отношение ПАБК : сульфадиазин = 1 : 200 (Lampen, Jones, 1946). Химическое строение, а следовательно, и механизмы действия сульфадиазина и сульфадимезина почти идентичны. То, что для снятия половины ингибирующего эффекта сульфаниламида на кокцидии и бактерии необходимо разное количество ПАБК, можно объяснить следующим образом. Вероятно, активный центр дигидрофолатсинтетазы у кокцидий в большей степени комплементарен молекуле сульфаниламида, чем аналогичный активный центр фермента у бактерий. Поэтому в опытах на кокцидиях с конкурентным вытеснением сульфаниламида ПАБК требуется в 6 раз больше биосубстрата, чем в случае бактерий.

При увеличении содержания ПАБК от ПАБК : СД = 1 : 16.7 до ПАБК : СД = 1 : 1.25 летальность цыплят резко увеличивается, вероятно, вследствие усиления жизнедеятельности паразита за счет включения этого предшественника и биосинтеза из него ДГФК и ТГФК. Сходные данные по увеличению репродуктивной способности *E. acervulina* (на 15.4%) и *E. tenella* (на 17%) были получены Уорреном (Warren, 1968) при введении ПАБК в дефицитный по этому субстрату корм для зараженных цыплят.

При дальнейшем увеличении содержания ПАБК летальность цыплят перестает изменяться, вероятно, вследствие полного насыщения активных центров фермента дигидрофолатсинтетазы и невозможности дальнейшего увеличения биосинтеза нуклеотидов и аминокислот у паразита.

Получив подтверждение того, что предшественник ФК — ПАБК — интенсивно снимает ингибирующий эффект СД на *E. tenella*, и установив, что сама ФК этим свойством не обладает, мы решили выяснить, обладают ли данным свойством субстраты, в биосинтезе которых участвует продукт трансформации ФК — ТГФК. Этими субстратами являются монофосфаты нуклеозидов (тимидина, аденоцина и гуанозина) и аминокислоты (L-метио-

⁴ Экстраполируя экспериментальные данные Мак-Мануса и др. по влиянию добавки ПАБК к сульфахиноксалину на относительные привесы цыплят, зараженных *E. brunetti*, к привесам, равным таковым в контрольной группе, не получавшей препаратов, мы нашли, что эффекты препаратов становятся равными при их отношении 1 : 19.

дин и глицина). Установлено, что *E. tenella* (Morgan, Canning, 1974), *T. gondii* (Gelderma et al., 1969) и *P. lophurae* (Walsch, Sherman, 1974) усваивают аденоzin. Напротив, тимидин не включается в *E. tenella* (Morgan, Canning, 1974), в *E. gallospermophili* (Roberts et al., 1970), в *T. gondii* (Gelderma et al., 1969), в *P. bergei* (Eling, 1969) и в *P. lophurae* (Walsch, Sherman, 1974). Необходимость L-метионина для *E. tenella* была установлена Хованских (1974), для *Tetrahymena geleii* Киддером (Kidder, 1953) и для *Trichomonas foetus* Вейссом и Беллом (Weiss, Bell, 1947). Усвоение глицина констатировали у *E. tenella* Хованских (1974) и у *T. foetus* Вейсс и Белл (Weiss, Bell, 1947).

В своих экспериментах мы использовали смеси, составленные из всех вышеперечисленных биосубстратов⁵ за исключением тимидина, который не усваивается кокцидиями. Результаты опытов позволяют считать, что добавка смеси монофосфатов нуклеозидов и аминокислот к СД не снимает его ингибирующий эффект на кокцидии. Отсутствие тимидина у кокцидий оказалось в наших опытах решающим. Собственный биосинтез тимидина у паразита в условиях опыта не мог реализоваться, так как для этого у него должна была синтезироваться ТГФК. Синтез ее в условиях опыта был прерван из-за блокирования дигидрофолатсинтетазы СД. Правильность этих рассуждений подтверждается при анализе экспериментальных данных Уоррена. Автор обнаружил, что добавление ФК в корм цыпленка, сильно обогащенный рядом витаминов, в том числе и ПАБК, существенно увеличивает репродукцию ооцист *E. acervulina* (на 35.9%) и *E. tenella* (на 61.8%). В условиях опытов Уоррена биосинтез тимидина, вероятно, обеспечивала собственная ТГФК, синтезируемая им из поступавшей ПАБК. Дополнительное поступление из организма хозяина аденоzина, L-метионина и глицина, обусловленное добавкой ФК, вероятно, стимулировало усиление жизнедеятельности кокцидий.

ВЫВОДЫ

1. *E. tenella* не включает готовую ФК в метаболизм; паразит синтезирует ее метаболит ДГФК из его предшественника ПАБК, поступающего извне в организм хозяина — цыпленка.
2. ПАБК может быть полностью вытеснена из метаболизма ингибитором СД при их молярном соотношении 1 : 16.7.
3. Сульфаниламид в системе *E. tenella*—цыпленок является более сильным конкурентным антагонистом ПАБК, чем у бактерий *S. faecalis* в культуральной среде.
4. Конкуренция ПАБК и СА у *E. tenella* и *E. brunetti* не имеет существенных различий.
5. Усиление жизнедеятельности *E. tenella* в системе паразит—цыпленок достигает максимума при соотношении ПАБК : СД = 1 : 1.25.
6. Продукты биосинтезов с участием ДГФК — нуклеиновые основания Г, А, трансформирующиеся в организме в соответствующие фосфаты нуклеозидов и аминокислоты L-метионин и глицин, которые поступают в организм хозяина, не стимулируют жизнедеятельность *E. tenella*.

Л и т е р а т у р а

Крылов М. В. 1969. Оценка кокциостатических свойств препаратов. Ветеринария, № 10 : 48—51.
Хованских А. Е. 1974. Использование кокцидиями *Eimeria tenella* некоторых аминокислот из клетки хозяина для своих белков. Паразитолог., 8 (6), 456—459.
Bell P. H., Roblin R. O. Jr. 1942. Studies on Chemotherapy. 7. A Theory of the Relation on Structure to Activity of Sulfanilamide Type Compounds. J. Am. Chem. Soc., 64 : 2905—2917.

⁵ Вместо аденоzина и гуанозина в опытах применялись более доступные аденин и гуанин. Известно, что эти вещества легко рибофосфорилируются в организме, превращаясь в соответствующие фосфаты нуклеозидов.

Brown G. M. 1962. The Biosynthesis of Folic Acid. 2. Inhibition by sulfonamides. *J. Biol. Chem.*, 237, (2) 536—540.

Eling W. 1969. Nucleic acid metabolism in the parasite Plasmodium berghei, and in the host during parasitemia. Progress in Protozoology. III Ind international congress on Protozoology. Leningrad, 1969, p. 139.

Gelderman, Perotto, Lund. 1969. Цит. по: Roberts W. L., Eisner Y. Y. Shigematsu A., Hammond D. M. 1970. Lack in incorporation of ^3H -thymidine into *Eimeria callospermophile* in cell cultures. *J. Parasitol.*, 56, (4) : 833—834.

Hitchings G. H. 1966. Цит. по: Ю. М. Островский. Антивитамины в экспериментальной и лечебной практике. «Беларусь», Минск, 1973, 174 с.

Horton-Smith C., Boyland E. 1946. Sulphonamides in the treatment of caecal coccidiosis of chickens. *Brit. J. Pharmac. Chemotherapy*, 1 : 139—142.

Hutchison W. M., Dunnachie J. F., Siim J. C., Work K. 1970. Coccidianlike nature of toxoplasma. *Brit. Med. J.*, № 5689 : 142—144.

Jaenike L., Chan C. 1960. Die Biosynthese der Folsäure. *Angew. Chem.* 72, (19—20) : 752—753.

Kidder G. W. 1953. The Nutrition of Invertebrate Animals. In: Biochemistry and Physiology of Nutrition, ed. Bourne a. Kidder, Acad. Press, N. Y., 1953, vol. 2, pp. 162—196.

Kuhnau J. 1968. Цит. по: Ю. М. Островский. Антивитамины в экспериментальной и лечебной практике. «Беларусь», Минск, 1973, 174 с.

Lampe J. O., Jones M. J. 1946. The antagonism of sulfonamide inhibition of certain lactobacilli and enterococci by pteroylglutaminic acid and related compounds. *J. Biol. Chem.*, 166, (2) : 435—447.

Levine P. P. 1944. The Coccidiostatic Effect of Sulfaguanidine. *Cornell Vet.*, 31 : 107—112.

Matsuzama T., Kitano N. 1974. Studies on the Mode of Action of Sulfachloropyrazine against Coccidia in Chickens. *Jap. Poultry Sci.*, 11, (3) : 75—84.

McManus E. C., Oberdick M. T., Cuckler A. C. 1967. Response of Six Strains of *Eimeria brunetti* to two antagonists of para-aminobenzoic acid. *J. Protozool.*, 14, (3) : 379—389.

Morgan K., Cannington E. U. 1974. Incorporation of ^3H -thymidine and ^3H -adenosine by *Eimeria tenella* grower in chick embryos. *J. Parasitol.*, 60, (2) : 364—367.

Ovendulve J. P. 1970. The probably identity of Toxoplasma and Isospora and the role of the cat in the transmission of toxoplasmosis. *Tridachr. Diergeneesk.*, № 95 : 149—155.

Roberts W. L., Eisner Y. Y., Shigematsu A., Hammond D. M. 1970. Lack of incorporation of ^3H -thymidine into *Eimeria callospermophili* in cell cultures. *J. Parasitol.*, 56 (4) : 833—834.

Rubbio S. D., Gillespie J. M. 1940. Para-Amino Benzoic Acid as a Bacterial Growth Factor. *Nature*, 146 (3713) : 838—839.

Siim J., Hutchison W. M., Work K. 1970. Transmission of Toxoplasma gondii. Further studies on the morphology of the cyclic form in cat feces. *Acta Path. mikrobiol. scand.*, 74, (4) : 756—757.

Walisch C. J., Sherman J. W. 1968. Purine and Pyrimidine synthesis by the avian parasite, *Plasmodium lophurae*. *J. Protozool.*, 15, (4) : 763—770.

Warren E. W. 1968. Vitamine requirements of the coccidia in chicken. *Parasitology*, 58 : 137—146.

Weiss E. D., Bell G. H. 1947. Nutritional Requirements of *Trichomonas foetus* with special Reference to Partially Digested Proteins. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 65 (2) : 278—283.

Woods D. D. 1940. The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of the action of sulphanilamide. *Brit. J. Exp. Path.*, 21 : 74.

BIOSYNTHESIS OF THE FOLIC ACID IN *EIMERIA TENELLA* (COCCIDIA)

V. I. Zaionts, M. V. Krylov, V. I. Loskot, A. I. Kirillov

S U M M A R Y

The inhibitory analysis has shown that *E. tenella* does not include ready folic acid into metabolic process but synthesizes its metabolite, 7,8-dihydrofolic acid (DHFA), from its precursor, para-aminobenzoic acid (PABA), which enters the host's organism. PABA can be fully substituted in the process of metabolism by sulphadimesin (SD) at the molar ratio PABA : SD = 1 : 16.7. As a concurrent antagonist of PABA SD is 6 times stronger in the parasite-host system of *Coccidia* than in bacteria in cultural medium. The increase in PABA content in relation to SD more than 1 : 16.7 intensifies the viability of *Coccidia* that is expressed in higher lethality of chicks, which reaches its maximum at PABA : SD = 1 : 1.25. A further increase in the content of PABA does not affect the host's lethality. The decrease in PABA in relation to SD lower than 1 : 16.7 reduces the viability of *Coccidia*. Nucleic bases G, A transforming in the organism into corresponding nucleotids and aminoacids, l-metionin and glycine, which are the products of biosynthesis with a participation of DHFA, do not stimulate the viability of *E. tenella* that apparently is associated with the non-capability of the host to assimilate timidin.